

KÖRPERGEWICHT, TUMORANÄMIE, FIBRINOGENWERT  
UND ALDOLASE-AKTIVITÄT IM SERUM  
ZUM  
TUMORSTADIUM BEI DER RATTE

Rudolf Reich

1975



AUS DER CHIRURGISCHEN UNIVERSITÄTSKLINIK  
DER  
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ZUORDNUNG  
VON  
KÖRPERGEWICHT, TUMORANÄMIE, FIBRINOGENWERT  
UND ALDOLASE-AKTIVITÄT IM SERUM  
ZUM  
TUMORSTADIUM BEI DER RATTE

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,  
den Medizinischen Fachbereichen



vorgelegt von

Rudolf Reich

aus Frankenthal/Pfalz

Mainz 1975

Fachbereichsdekan: Professor Dr.H.LANGENDORF

Referent: Professor Dr.R.LOTH

Korreferent: Professor Dr.H.BRÜNNER



Tag der mündlichen Prüfung: 18.November 1975

Meinen Eltern





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554413\\_0108](https://archive.org/details/IA41554413_0108)

## INHALTSVERZEICHNIS

|                            | Seite |
|----------------------------|-------|
| I. EINLEITUNG              | 1     |
| II. VORBEMERKUNG ZUM THEMA | 3     |
| III. MATERIAL UND METHODE  | 10    |
| IV. ERGEBNISSE             | 17    |
| V. DISKUSSION              | 38    |
| VI. ZUSAMMENFASSUNG        | 55    |
| VII. LITERATURVERZEICHNIS  | 57    |



## I. E I N L E I T U N G

Bei Patienten mit malignen Geschwülsten werden regelmäßig Blutbildveränderungen festgestellt. Man spricht dabei von einer Tumor-Anämie, die in der Abweichung verschiedener Parameter vom Normalen zum Ausdruck kommt.

Aber auch Gerinnungsstörungen werden im Gefolge eines neoplastischen Wachstums bemerkt. Unter anderem werden diese auf Veränderungen des Plasma-Fibrinogen-Spiegels zurückgeführt. Seit geraumer Zeit werden Fermentreaktionen als Suchtests für Carcinome diskutiert; darunter die Aldolase-Bestimmung im Serum.

Eine Beobachtung der Beziehung zwischen den Stadien der Tumoren und den abweichenden Laborwerten ist im Experiment bei künstlicher Tumorerzeugung besonders gut möglich.

Das Experiment kann dann Antwort auf die folgenden Fragen geben:

Zu welchem Zeitpunkt im Laufe der Tumorentwicklung ändert sich das Blutbild im Sinne der Anämie ?

Wann erfolgt die Abweichung des Fibrinogenspiegels im Plasma vom Normalen?

Wie und wann verändert sich die Aldolase-Aktivität im Blutserum; wie kann man diese Veränderung mit dem jeweilig vorliegenden Entwicklungsstadium des Tumors in Verbindung bringen?

Schließlich soll die Frage erörtert werden, ob sich die Aldolase-Bestimmung im Serum als Suchtest eignet.

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde als Modell das durch 1,2-Dimethylhydrazin erzeugte Dickdarm-Carcinom der Ratte gewählt.

## II. VORBEREITUNG :

### Literatur zum Thema

#### II. 1. Colon-Cancerogene bei der Ratte

Als Carcinogen, das nahezu selektiv Tumoren des Dünn- und Dickdarmes der Ratte erzeugen soll, wird von COTCHIN E. und ROE F.J.C. das subcutan zu verabreichende 3,2-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) angegeben. SPJUT H.J. und NOALL M.W. berichten über eine 80%ige Induktionsrate für Colon-Neoplasmen bei diesem Cancerogen. Als colonspezifische krebserregende Substanzen sind weiterhin N-Nitrosomethyl-Harnstoff, N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin und N-äthyl-N-nitro-N-nitrosoguanidin bekannt ( WEISBURGER J.H.).

Nach der Entdeckung des Naturprodukts Cycasin, eines Glykosids aus dem Samen der auf Guam gedeihenden Pflanze *Cycas circinalis*, als spezifisches Carcinogen für den Dickdarm der Ratte ( LAQUEUR G.L.) bei oraler Anwendung hielt die Gruppe der mit dieser Substanz verwandten Verbindungen Einzug in die experimentelle Tumorforschung. Schon LAQUEUR G.L. erkannte, daß das Aglycon des Cycasin, Methylazoxymethanol, intraperitoneal appliziert ebenfalls die krebserzeugende Wirkung auf den Darm der Ratte hat; allerdings entstanden neben Colon-Carcinomen auch Tumoren im Dünndarm.

Die Wirkung des in dieser Studie verwendeten Carcinogens 1,2-Dimethylhydrazin (DMH) auf den Rattendarm wurde zum

ersten Mal von DRUCKREY H. et al beschrieben. Nach wöchentlicher subcutaner Gabe von 21 mg/kg Körpergewicht starben nach einer mittleren Inkubationszeit von  $184 \pm 20$  Tagen alle Tiere mit multiplen Tumorknoten im Darm, die meisten davon im Dickdarm gelegen. Die Tumorknoten waren Adeno-Carcinome mit infiltrierendem Wachstum. Weitere Untersuchungen von DRUCKREY H.; WIEBECKE B. et al (2), SCHAUER A. et al ( 1 und 2), SPRINGER P. et al und EVANS J.T. et al bestätigten und erhärteten dieses Ergebnis, wobei die Colon-Carcinome teilweise auch bei anderer Dosierung mit anderen Induktionszeiten erzeugt werden konnten, ebenso bei Mäusen.

Auf die ausgesprochene histologische Ähnlichkeit dieser Malignome mit menschlichen Tumoren des gleichen Typs gehen SCHAUER A. et al ( 1 und 2), DRUCKREY H. und WITTIG G. et al ein.

Über den Wirkungsmechanismus der Substanz DMH ist bekannt, daß sie bei oraler Gabe - bei der sie den gleichen Effekt zeitigt wie subcutan appliziert ( WEISBURGER J.H., DRUCKREY H.) - durch bakterielle Enzyme im Darm zuerst zu Azomethan, dann dieses zu Azoxymethan oxidiert wird. Azoxymethan wiederum wird in der Leber durch Enzyme des Endoplasmatischen Retikulums hydroxyliert und mit Hilfe eines weiteren Fermentsystems mit Glucuronsäure konjugiert. Dieses Glucuronid wird in der Galleflüssigkeit in den Darm abgegeben und unter Wirkung einer bakteriellen beta-Glucuronidase im Colon hydrolysiert. Dabei

wird aktives Methylazoxymethanol abgespalten, das als "ultimate carcinogen" anzusprechen ist ( WEISBURGER J.H.).

Auch subcutan verabreicht erfolgt zuerst eine Oxidation zu Azomethan und dann zu Azoxymethan. Diese beiden Substanzen werden in der Leber zu Methylazoxymethanol oxidiert. Die letztgenannte Substanz oder ihr Glucuronid wird in die Galle sezerniert und gelangt so in den Darmtrakt, um mit den Produkten der oral verabreichten Substanzen das Schicksal zu teilen ( WEISBURGER J.H.).

Auch ein zweiter Abbauweg wird für möglich gehalten: Nach der Oxidation zu Azomethan wird durch mikrosomale Enzyme diese Verbindung demethyliert; es resultiert Formaldehyd und eine hochreagible Methylgruppe, wahrscheinlich ein Carbonium-Ion, das Nukleinsäuren zu alkylieren imstande ist ( HAWKS A. et al), was experimentell in vivo nachgewiesen werden konnte ( WEISBURGER J.H.).

Bezüglich des weiteren Metabolismus erwähnt WEISBURGER J.H. Hypothesen, daß eine Reaktion zwischen dem Endprodukt aus dem Cancerogen und spezifischen Rezeptoren, wie es beispielsweise die DNA ist, zustande kommt. Oder daß das Endprodukt als Derepressor für einen Teil des Genoms fungiert, der die " carcinoembryonic antigens"

codiert ( WEISBURGER J.H.).

Im Metabolismus des DMH wird die enge chemische und wirkungsmäßige Verwandtschaft einerseits zu dem bereits erwähnten Methylazoxymethanol und Azoxymethan, andererseits zu den Hydrazinen offenbar, welche Substanzen auch für sich als Carcinogene angewendet wurden ( ANONYM): Azoxymethan als Metabolit des DMH ist ebenso wie DMH subcutan und oral verabreicht wirksam; es erzeugt an Ratten selektiv ebenfalls Colon- und Rectum-Carcinome ( DRUCKREY H., DRUCKREY H. und LANGE H., WEISBURGER J.H.).

Von den Hydrazinen und deren Derivaten können verschiedene, außerhalb des Magen-Darmtraktes gelegene Tumoren hervorgerufen werden ( WEISBURGER J.H.).

Was die Organotropie der Substanzen DMH, Methylazoxymethanol und Azoxymethan angeht, so kann diese als noch nicht vollständig geklärt angesehen werden; jedenfalls wird die Colonspezifität mit der Methylgruppe der Verbindungen in Zusammenhang gebracht ( DRUCKREY H. und LANGE A.).

## II. 2. Plasma - Fibrinogen - Spiegel

Es ist bekannt, daß die chronische intravasale Gerinnung fast nur in Gegenwart von Tumoren vorkommt ( STRAUB P.W. und KESSLER S.). Als ein Parameter dieser Koagulopathie ist die signifikante Erhöhung des Fibrinogenspiegels im Plasma von Tumor-Patienten anzusehen ( MILLER S.P. et al, SOONG B.C.F. und MILLER S.P.). Am Experimentaltier Ratte

wurde nach Erzeugung von Tumoren ein ähnliches Verhalten festgestellt ( HILGARD P. und HIEMEYER V.). Als Grund für die Veränderung wird die Erhöhung der Utilisationsrate des Fibrinogens angesehen, die zu einer kompensatorischen Überproduktion dieses Gerinnungsfaktors führen könnte ( MILLER S.P. et al).

### II.3. Tumoranämie

Während in der Frühphase eines Tumorleidens normale hämatologische Befunde dominieren, ist in fortgeschrittenen Fällen oft eine normochrome bis hypochrome Anämie vorhanden ( PRELLWITZ W., GROSS R., POLLYCOVE M.). KEIDERLING W. sieht als Ursache dafür eine doppelte Störung: einerseits Hemmung der Blutbildung, andererseits gesteigerter Blutabbau. Ferner wird sie gedeutet als Eisenmangelanämie, bedingt durch:

- a) Verlust von Eisen bei chronischen Blutungen im Gastrointestinaltrakt ( POLLYCOVE M., PRELLWITZ W., PRIBILLA W.)
- b) teilweise verminderte Eisen-Resorption aufgrund von Veränderungen der Darmmucosa ( PRELLWITZ W.)
- c) Abwanderung des Eisens in das Retikuloendotheliale System ( RES ) ( PRELLWITZ W., KEIDERLING W.).

Dabei ist der Umsatz des Plasmaeisens wesentlich gesteigert, die mittlere Lebensdauer der Erythrozyten verkürzt ( KEIDERLING W., POLLYCOVE M.). Die Eisen-

Reserven werden aufgebraucht, der Eisen-Mangel verhindert die Erythrozyten-Produktion, die zur Kompensation nötig wäre. Es resultiert die hypochrome Eisenmangelanämie (PRIBILLA W.) mit veränderten Hämoglobin-(Hb), Hämoglobin/Erythrozyt-(Hb<sub>E</sub>) Werten; eventuell auch veränderten Hämatokrit- und Erythrozytenwerten ( PRELLWITZ W., KEIDERLING W.).

## II. 4. Aldolase-Aktivität im Serum

Die Aktivität der Fructose-1,6-Diphosphatase, auch Diphosphofructaldolase ( BUDDECKE E.) oder Zymohexase ( WARBURG O. und CHRISTIAN W.) genannt, die im Rahmen der Glykolyse Fructose-1,6-Diphosphat in Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat spaltet, ist im Serum bei einer Vielzahl von Krankheiten erhöht, was teilweise in der Diagnostik dieser Erkrankungen verwendet wird. Derartige Veränderungen sind u.a. bei Hepatitis infectiosa ( AMELUNG D., BRUNS F. und PULS W., COODLEY E.L. ( 1 u. 2), FRIEDEMANN H. und WAGENKNECHT C.), bei Herzerkrankungen ( COODLEY E.L. (1)) und hämolytischen Anämien ( AMELUNG D.) bekannt.

Die Aldolase-Aktivität und die ihrer Isoenzyme im Serum wird dagegen hauptsächlich in der Diagnostik und Differentialdiagnostik verschiedener Muskelerkrankungen eingesetzt ( AMELUNG D., KORTING G.W., LUIF A. et al, TSETANOVA E., TZVETANOVA E., ZELLWEGGER H. et al, DREYFUS J.C. et al).

Über die Erhöhung der Serumaldolase bei Malignomen liegen eine Reihe zum Teil widersprüchlicher Untersuchungen vor.

WARBURG O. und CHRISTIAN W. stellen fest, daß im Plasma von tumortragenden Ratten ( Jensen-Sarkom) die Aldolase gegenüber gesunden Tieren erhöht war; besonders bei den Tieren, bei denen große Tumoren vorhanden waren. Bei Untersuchungen am Menschen zeigte sich, daß die Aldolase keine diagnostische Aussagekraft in Bezug auf einen Primär-Tumor besitzt; erst im Spätstadium bzw. bei Rezidiven nach vorheriger Behandlung kann es zu einem signifikanten Anstieg dieses Enzyms im Serum kommen ( BAKER R. und GOVAN D., DALLÜGE K.H. et al, MERTEN R. und SOLBACH H.G.). Lediglich der Prostatakrebs scheint hier eine Ausnahme zu machen: Bei Patienten mit diesem Leiden wurden schon in relativ frühen Stadien Erhöhungen gefunden ( MERTEN R. und SOLBACH H.G., HESS B.).

So wird die Aldolase-Bestimmung von DALLÜGE K.H. et al als Screening-Untersuchung auf Rezidive und/oder Metastasen bei Malignomen empfohlen. Die Wahrscheinlichkeit des Bestehens von Rezidiven und/oder Metastasen bei Pathologisch erhöhten Fermentwerten wird mit 87%, die Wahrscheinlichkeit des Nichtbestehens von Rezidiven und/oder Metastasen bei normalen Fermentwerten mit 92% angegeben. Die Treffsicherheit liegt dabei für das Adeno-Carcinom besonders hoch: 100% !

### III. MATERIAL UND METHODE

#### III. 1. Material

Als Versuchstiere dienten 100 männliche Wistar-Albinoratten, die bei Versuchsbeginn 80 bis 240 g schwer waren. Sie wurden in der tierexperimentellen Station der Chirurgischen Universitätsklinik Mainz unter konstanten Temperaturbedingungen bei Licht und in 28 Gruppen zu je 4 bis 6 Tieren nach Gewicht geordnet, in Plastikkäfigen gehalten. Die Nahrung bestand aus Altromin<sup>R</sup>-Futter; Wasser erhielten die Tiere ad libitum.

III. 1.1. Standardwerte für die Blutuntersuchungen wurden aus den Tieren ermittelt, die während der ersten fünf Wochen des Versuchs getötet wurden. Für das Gewichtsverhalten wurde eine Kontrollgruppe von 10 Tieren gehalten, die nicht mit DMH behandelt wurden.

III. 1.2. 90 Tiere wurden zur Krebserzeugung mit DMH behandelt. An ihnen wurden Blutuntersuchungen vorgenommen und das Gewichtsverhalten beobachtet.

III. 1.3. Von den mit DMH behandelten Tieren konnten bei den einzelnen Blutuntersuchungen nur wechselnde Anzahlen zur Auswertung kommen, da die Blutproben vereinzelt nach der Entnahme hämolysierten und damit unbrauchbar wurden. Außerdem starb eine Anzahl von Ratten während des Untersuchungszeitraumes.

### III. 2. Methode

#### 2.1. Behandlungsmethode

Die 90 Versuchstiere erhielten wöchentlich nach dem Wiegen je eine subcutane Injektion von 21 mg Dimethylhydrazin - Base ( 840 mg in 0,01 M.E.D.T.A.-Lösung ad 100 ml; pH = 6,5 aseptisch hergestellt; 0,5 ml = 4,2 mg Base) pro/kg Körpergewicht.

Da nach Vorversuchen bzw. aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Literatur frühestens ab einer Inkubationszeit von 40 Tagen mit laborchemischen Veränderungen gerechnet werden konnte, wurden bis zu diesem Zeitpunkt nur 20 Tiere untersucht. Ihre blutchemischen Werte entsprachen den Normalwerten.

Von der 6. Woche des Versuchs an wurden 14-tägig Gruppen von 3 bis 10 Tieren ausgewählt; bei Vorliegen von Veränderungen der laborchemischen Werte wurde die jeweilige Gruppe nachträglich noch um einige Tiere erweitert. Zum Zeitpunkt der Tötung wogen die Ratten 170g bis 380g, mit einem Mittelwert von 286g.

Die ausgewählten Tiere wurde mit Äther narkotisiert, die Bauchdecke wurde eröffnet und durch Punktion der Arteria abdominalis wurde das Tier entblutet. Das Blut wurde je nach Mengenanforderung der verschiedenen klinisch-chemischen Untersuchungen geteilt und der Laborchemie zugeführt.

Nach Tötung der Ratte in Narkose wurde der Dickdarm von Caecum ab bis zum After entnommen, längs aufgeschnitten und gereinigt. Die Gesamtlänge des Dickdarms wurde gemessen und das Präparat makroskopisch auf Tumoren, Ulcerationen oder sonstige Auffälligkeiten inspiziert. Falls vorhanden, vermerkten wir sie mit Angabe der Lokalisation in cm vom Anus ausgehend. Für die histologische Begutachtung wurde das Colon in zwei etwa gleich lange Abschnitte getrennt, nach kurzer Fixierung in Formalinlösung jeder Abschnitt über einer Klammer zu einem Röllchen aufgespult, das orale Ende voran. Die so behandelten Teilstücke wurden gekennzeichnet und nach dem Einparaffinieren dem Schneiden und einer HE-Färbung zugeführt.

### III. 2.2. Auswertungsmethode

#### 2.2.1. Cancerisierung

Die makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen im Laufe des Versuchs wurden erfasst durch

- a) makroskopische Beurteilung des Darms nach Tötung des Tiers;
- b) mikroskopische Inspektion, wobei bei Nichterfassung eines makroskopisch vorhandenen Tumors weitere Schnitte in verschiedenen Ebenen angefertigt wurden.

Die erhaltenen Veränderungen wurden eingeteilt in die Gruppe der Polypen einer- und die der Carcinome

andererseits. Als Kriterien für das Vorliegen eines Carcinoms galt als Hauptpunkt:

Invasives Wachstum;

daneben wurden noch andere Zeichen beachtet, wie:

Pleomorphie, hyperchromatische Kerne, starke Basophilie des Cytoplasmas ( BACON H.E. et al);  
Verlust der Becherzellen ( SPRINGER P. et al).

### III. 2.2.2. Gewichtsverhalten

Im Laufe des Versuchs wurde das Gewicht der anfangs 90 Tiere im Abstand von 2 Wochen regelmäßig notiert. Zusätzlich wurde das Gewichtsverhalten weiterer 66 Ratten, die im Rahmen einer anderen Studie gleichermaßen behandelt wurden, miteingetragen. Die erhaltenen Werte wurden statistisch ausgewertet:

- a) Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung aller behandelten Tiere;
- b) Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung der Gruppen, die in 14-tägigen Abständen getötet wurden.

### III. 2.2.3. Fibrinogen-Plasma-Spiegel

Der Wert wurde im Citrat-Plasma mit dem "Fibrinogen-Reagenz" der Firma BOEHRINGER MANNHEIM GmbH bestimmt. Die Gerinnungszeit wurde dabei am Koagulometer festgelegt. Maßeinheit ist mg/100 ml Plasma.

### III. 2.2.4. Tumoranämie

Als Parameter der Tumoranämie wurden ausgewählt:

- a) Hämatokrit-Wert; Bestimmung mit der Methode nach Strumia et al ( DEUTSCH E. und GEYER G.).
- b) Hämoglobin; der Wert wurde mit dem Cyan-Reagenz der Firma ASID mit dem Erymat bestimmt. Maßeinheit ist g/100 ml Blut.
- c) Erythrozytenzahl; die Bestimmung in  $10^6$ /ml Blut erfolgte in Gowerscher Lösung am Erymat.

### III. 2.2.5. Aldolase-Aktivität im Serum

Die Aktivität der Aldolase im Serum wurde photometrisch mit dem Aldolase-Reagenz der Fa. Boehringer Mannheim bestimmt. Dimension ist mU/ml Serum.

### III. 2.2.5. Statistische Auswertungsmethoden

Die statistische Auswertung III.2.2.3., III.2.2.4. und III.2.2.5. bestand aus:

- a) Errechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung aller behandelten Tiere, von denen jeweils die betreffenden Blutuntersuchungen durchgeführt werden konnten.
- b) Errechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung verschiedener Gruppen.
- c) Prüfung auf signifikante Unterschiede zwischen einigen dieser Gruppen.
- d) Bei 2.2.5. Berechnung des Regressionskoeffizienten aus allen erhaltenen Werten.

- e) Berechnung des Korrelationskoeffizienten zwischen den Variablen Erythrozytenzahl und Aldolase-Aktivität i. Serum.

III. 2.2.7. Bemerkung zu den eingesetzten statistischen Auswertungsmethoden

a) Mittelwert und Standardabweichung

Das arithmetische Mittel von Meßwerten als deren Summe, geteilt durch ihre Anzahl wurde anhand der für die Errechnung üblichen Formel ermittelt (CLAUSS G. und EBNER H.).

Die Standardabweichung als die mittlere quadratische Abweichung ist die Quadratwurzel aus der Varianz (CLAUSS G. und EBNER H.). Sie darf als zuverlässiger Schätzwert für die Streuung in der Grundgesamtheit gelten (CLAUSS G. und EBNER H.).

- b) Zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde der T-Test eingesetzt. Es wurde die Testgröße T berechnet, die eine Studentsche t-Verteilung mit  $(n_1 + n_2 - 2)$  Freiheitsgraden hat. Gegeben waren die Mittelwerte  $\bar{x}_1$  und  $\bar{x}_2$  und die Varianzen  $s_1^2$  und  $s_2^2$  von zwei unverbundenen Stichproben vom Umfang  $n_1$  bzw.  $n_2$ .

- c) Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten (r) erlaubt die Antwort auf die Fragen wie stark der lineare Zusammenhang zwischen 2 Variablen ist.

Er kann Werte zwischen  $-1$  bis  $+1$  annehmen ( $-1 \leq r \leq +1$ ). Ist der Korrelationskoeffizient  $r = 0$ , so bedeutet das, daß zwischen den Variablen kein linearer Zusammenhang besteht. Ein  $r = +1$  zeigt an, daß  $x$  und  $y$  vollständig positiv korreliert sind, d.h. für wachsendes  $x$  nimmt auch  $y$  zu. Entsprechend wird für wachsendes  $x$  und abnehmendes  $y$  mit einer negativen Korrelation gerechnet.

- d) Die lineare Regression wurde als Grundlage für die Regressionsgerade der Abb. 5 berechnet. Sie gibt die Art des Zusammenhangs zwischen 2 Variablen an (CAMBELL R.C.).

#### IV. E R G E B N I S S E

##### IV. 1. Krebsentwicklung

Ab der 6. Woche waren mikroskopisch in den bis dahin makroskopisch unauffälligen Präparaten vergrößerte Lymphfollikel in der Darmschleimhaut zu finden, teilweise lag gleichzeitig eine Lymphozyteneinwanderung in die Mucosa vor. Außerdem war oft in Abschnitten oder in voller Länge des Dickdarms gesteigerte Proliferation der Drüenschläuche mit Schlingelung und Verlängerung und z.T. Verlust der Becherzellen festzustellen. Überwiegend war jedoch eine Schleimhautabflachung im Sinne einer Entzündung anzutreffen.

Die ersten Veränderungen, die makroskopisch am Dickdarm festgestellt wurden, waren breitbasig aufsitzende Polypen nach 17 Wochen Inkubationszeit. Die lymphozytäre Einwanderung hatte bis zu diesem Zeitpunkt kontinuierlich zugenommen, die Schleimhaut des Dickdarms war bei einigen Tieren bereits grob entzündlich verändert. Es waren auch Polypen und sogar invasiv wachsende Carcinome zu finden, die im Vergleich der Lokalisation den makroskopisch gefundenen Tumoren entsprachen.

IV. 1.1. Die gefundenen Polypen waren gestielt oder breitbasig aufsitzend und meist von adenomatösen Typ, gelegentlich aber auch papillär mit geschlingelten Drüenschläuchen.

IV. 1.2. Die gefundenen Carcinome waren in der Mehrzahl hochdifferenzierte, stark proliferierende Adenocarcinome mit invasivem Charakter. Nur vereinzelt war ein flächenhaft-infiltrierendes Wachstum vorhanden. Die meisten Carcinome wiesen Siegelringzellen auf. Gegen Ende des Versuchs fand sich in vereinzelter Fällen eine ausgedehnte Peritoneal-Carcinose.

Im Folgezeitraum stieg die Zahl der makroskopisch und mikroskopisch festgestellten Tumoren kontinuierlich an, jedoch waren bis zur 26. Woche noch Tiere ohne Tumoren, ohne Polypen oder Carcinome vorhanden. Ab dann traten mehr Carcinome auf, die die Muscularis mucosae überschritten hatten. Sie ließen sich in drei Gruppen einordnen:

- IV. 1.3. Die blumenkohlartig exophytisch wachsenden Carcinome,
- IV. 1.4. Schlüsselförmige Carcinome mit Krebsnabelbildung,
- IV. 1.5. Carcinome mit Stiel.

Dabei war die zweite Gruppe die zahlenmäßig am stärksten vertretene.

Tab. 1

AUFSTELLUNG DER GEZÄHLTEN VERÄNDERUNGEN

|                                          |    |
|------------------------------------------|----|
| Polypen und Carcinome gleichzeitig       | 23 |
| Carcinome allein                         | 33 |
| davon Einzelcarcinome                    | 9  |
| Mehrfachcarcinome                        | 24 |
| andere Veränderungen z.B. Mucosaatrophie | 19 |
| Polypen ohne Carcinome usw.              |    |
| Präparate ohne Veränderungen             | 7  |
| Insgesamt gemachte Beobachtungen         | 82 |

Tab. 2

MIKROSKOPISCH FESTGESTELLTE AUSDEHNUNG

DER CARCINOME

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Muscularis mucosae nicht infiltriert | 23 |
| Muscularis mucosae infiltriert       | 17 |
| Muscularis mucosae überschritten     | 16 |
| Carcinome insgesamt                  | 56 |

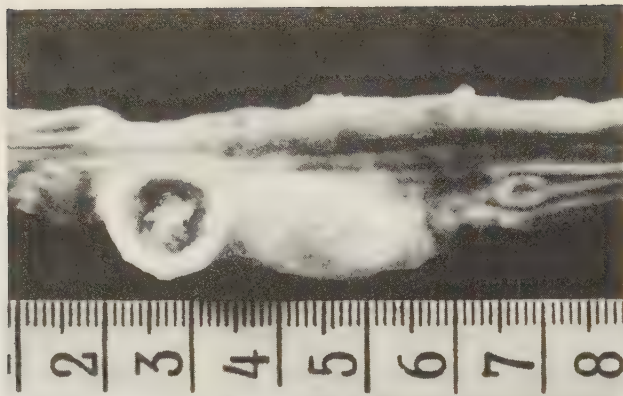


Foto 1 Schüsselförmiges Carcinom, daneben histologisch bereits entarteter breitbasiger Polyp. Rechts im Bild flaches Ulcus der Schleimhaut.

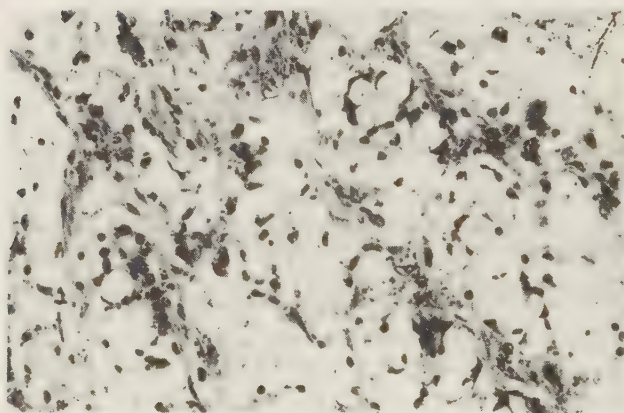


Foto 2 Ausschnitt aus einem Gallertcarcinom mit Gruppen von Siegelringzellen.

IV. 2. Gewichtsverhalten

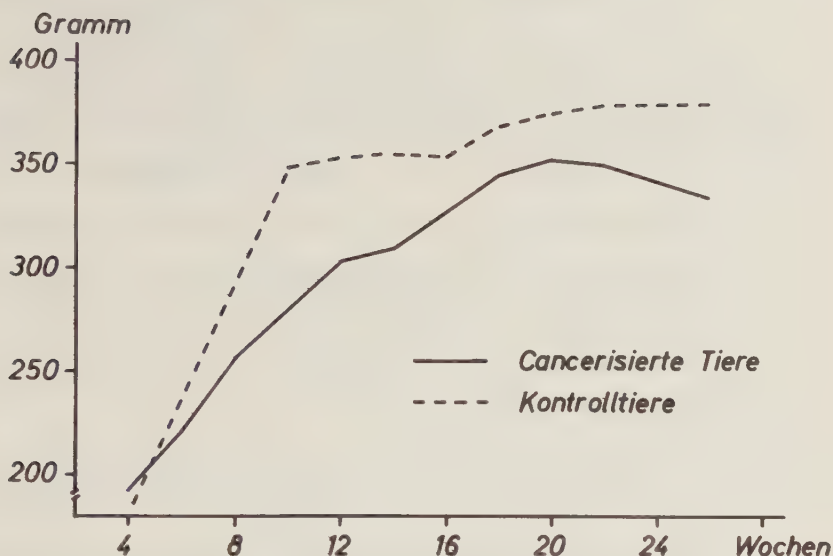


Abb. 1 Gewichtsverhalten der mit DMH behandelten Ratten und der unbehandelten Ratten im Laufe des Versuchs.

IV.2.1. Wie aus Abb. 1 ersichtlich ist, haben die Gruppen der cancerisierten Tiere ein anderes Verhalten bei der Gewichtszunahme als die Kontrollgruppe. In jeder der beiden Gruppen wurde der Mittelwert der Gewichte der einzelnen Ratten zum jeweiligen Wiegezeitpunkt gebildet. Die Wiegezeitpunkte lagen je um 14 Tage auseinander. Die Mittelwerte wurden miteinander verbunden. Es resultiert die Kurve in Abb. 1.

Bereits vom Beginn der 14-tägigen Wiegungen an zeigt sich eine stärkere Gewichtszunahme der Kontrolltiere als der behandelten Ratten. Die Differenz ist zunächst in der 10. Woche am größten; sie beträgt dann etwa 70 Gramm. Die Gewichtszunahme der Kontrolltiere stagniert dann in etwa: die Kurve gibt an, daß die Ratten ihr erreichtes Gewicht von etwa 360 g halten.

Anders die mit DMH gespritzten Tiere: Sie erreichen das von den Kontrolltieren gehaltene Gewicht erst 8 Wochen später; die Kurve zeigt jedoch an, daß in den verbleibenden Wochen im Gegensatz zu den Kontrolltieren Gewicht verloren wird.

IV.2.2. Mittels des T-Tests wurde geprüft, zu welchen Zeitpunkten signifikante Unterschiede zwischen den Gewichtsmittelwerten der beiden Gruppen bestanden. Dabei ging der Beobachtungszeitraum bis zur 24. Woche, da ab dann die cancerisierten Tiere mit wenigen Ausnahmen kachektisch wurden und ein Unterschied im Gewicht gegenüber der Kontrollgruppe offensichtlich war. Nur im Zeitraum zwischen der 8. und 14. Woche war ein Unterschied festzustellen mit dem Signifikanzniveau von 1%:

| <u>8.Woche</u> | <u>10.Woche</u> | <u>12. Woche</u> | <u>14.Woche</u> |
|----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| $x_1$ 257      | $x_1$ 279       | $x_1$ 303        | $x_1$ 309       |
| $x_2$ 291      | $x_2$ 348       | $x_2$ 353        | $x_2$ 355       |
| $n_1$ 140      | $n_1$ 137       | $n_1$ 134        | $n_1$ 131       |
| $n_2$ 10       | $n_2$ 11        | $n_2$ 10         | $n_2$ 10        |
| $s_1$ 29       | $s_1$ 40        | $s_1$ 39         | $s_1$ 46        |
| $s_2$ 37       | $s_2$ 26        | $s_2$ 30         | $s_2$ 29        |
| T -3.56        | T -5.68         | T -3.98          | T -3.09         |

Die Überprüfung des restlichen Zeitraumes, d.h. von der 1. bis 4. Woche und von der 14. - 24. Woche ergab keinen signifikanten Gewichtsunterschied.

IV.2.3. Die Standardabweichungen der Wochenmittelwerte der cancerisierten Tiere wurden denen der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

| <u>cancerisierte Tiere</u> |       |            | <u>Kontrolltiere</u> |          |
|----------------------------|-------|------------|----------------------|----------|
| 2.Wo                       | $s_1$ | 40 n = 151 | $s_2$                | 7 n = 10 |
| 4.                         |       | 45 150     | 21                   | "        |
| 6.                         |       | 30 145     | 25                   | "        |
| 8.                         |       | 29 140     | 37                   | "        |
| 10.                        |       | 40 137     | 26                   | "        |
| 12.                        |       | 39 134     | 30 n = 10            |          |
| 14.                        |       | 46 131     | 29                   | "        |
| 16.                        |       | 47 125     | 33                   | "        |
| 18.                        |       | 48 111     | 28                   | "        |
| 20.                        |       | 57 81      | 30                   | "        |
| 22.                        |       | 57 48      | 30                   | "        |

Die Standardabweichung bei den cancerisierten Tieren ist ab der 10. Woche größer als bei den Kontrolltieren, wobei diese eine fast konstante Standardabweichung haben. Bei den behandelten Tieren nimmt dagegen die Abweichung mit der Zeit ständig zu.

#### IV. 3. Fibrinogenveränderungen

IV. 3.1. Um einen Kontrollwert zu erhalten, wurde der Mittelwert derjenigen Werte gebildet, die die in den ersten 5 Wochen des Versuchs getöteten Ratten aufwiesen. Er betrug bei

$$n = 15$$

$$\bar{x} = 193$$

$$s = 27$$

Es waren dabei Fibrinogenwerte von 148 bis 229 mg/100 ml Plasma vorhanden.

Der Mittelwert aus allen mit DMH behandelten Tieren, die untersucht wurden, betrug bei

$$n = 80$$

$$\bar{x} = 187$$

$$s = 54$$

Dabei war der höchste gemessene Wert 324, der niedrigste 103 mg/100 ml Plasma.

IV. 3.2. Um eine Gegenüberstellung des Fibrinogen-Spiegels von Kontrolltieren mit sicher invasive Carcinome tragende Tiere zu ermöglichen, wurden die Werte dieser Tiere ausgesondert und der Mittelwert bestimmt.

$$n = 24$$

$$\bar{x} = 195$$

$$s = 56$$

#### IV. 4. Blutbildveränderungen

##### IV. 4.1. Hämatokritwert

###### IV. 4.1.1. Die Gruppe der Kontrolltiere ( s. IV. 3.1.)

wies Hämatokritwerte von 31 bis 45 % auf, bei

$$n = 14$$

$$\bar{x} = 37$$

$$s = 4$$

Die Gruppe der cancerisierten Ratten, bei denen der Hämatokritwert bestimmt werden konnte, hatte eine Streuung von 23 bis 48 %, bei

$$n = 75$$

$$\bar{x} = 34$$

$$s = 6$$

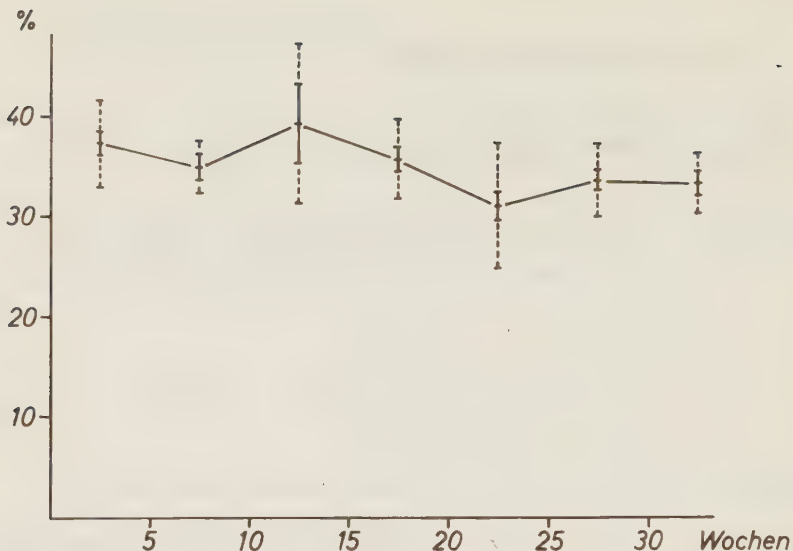


Abb. 2 Die Hämatokritwerte von Tötung in 5-wöchentlichen Abständen wurden gemittelt; die Kurve gibt die Verbindung zwischen diesen Mittelwerten an. Gleichzeitig sind die Standardabweichungen und die Standardabweichungen der Mittelwerte mit aufgezeichnet.

IV.4.1.2. Es zeigt sich, daß die Hämatokritwerte insgesamt betrachtet sich mit der Zeit nur unwesentlich veränderten. Lediglich zwischen der 12. und 22. Woche war ein gewisser Abfall der Werte festzustellen. Bis zum Ende des Versuchs war jedoch das Anfangsniveau nahezu wieder erreicht.

IV.4.1.3. Es wurde eine Gegenüberstellung der Mittelwerte aus den Werten der behandelten Tiere ohne tumoröse

Veränderung und derjenigen mit bereits die  
Muscularis mucosae infiltrierenden Carcinomen  
vorgenommen.

| <u>ohne Tu</u> | <u>mit Ca</u>  |
|----------------|----------------|
| n = 12         | n = 32         |
| $\bar{x} = 35$ | $\bar{x} = 34$ |
| s = 4          | s = 4          |

#### IV. 4.2. Hämoglobin

IV. 4.2.1. Die Kontrollgruppe ( s.IV 3.1.) hatte Werte  
zwischen 11,7 und 16,5 g/ 100 ml Blut. Bei

$$\begin{aligned}n &= 16 \\ \bar{x} &= 13 \\ s &= 1,5\end{aligned}$$

Mittelwerte der cancerisierten Tiere bei Wer-  
ten von 7,9 bis 17,8 g/100 ml Blut:

$$\begin{aligned}n &= 82 \\ \bar{x} &= 12,3 \\ s &= 2,3\end{aligned}$$

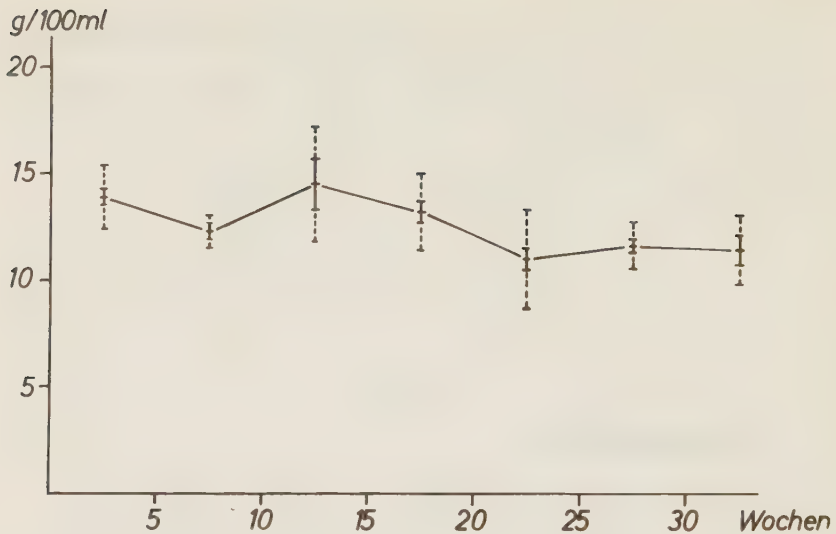


Abb. 3 Die Kurve gibt die Verbindung der Mittelwerte der Hämoglobinkonzentrationen von Tötung in 5-wöchentlichen Abständen wieder. Die Standardabweichung und die Standardabweichung der Mittelwerte sind ebenfalls mit eingezeichnet.

IV.4.2.2. Nach anfänglichem Schwanken bis zur 13. Woche fallen die Werte bis zur 23. Woche ab, um dann auf dem erreichten Niveau zu bleiben.

IV.4.2.3. Um etwaige stärkere Veränderungen innerhalb bestimmter Gruppen aus der Gesamtheit der behandelten Tiere zu erfassen, wurde eine Gegenüberstellung der Mittelwerte aus den Tieren ohne Tumoren und aus den Tieren mit invasiv wachsenden Carcinomen vorgenommen:

ohne Tu

n = 13

$\bar{x}$  = 12,7

s = 1,8

mit Ca

n = 28

$\bar{x}$  = 11,8

s = 1,4

#### IV. 4.3. Erythrozytenzahl

IV. 4.3.1. Die Kontrollgruppe ( s. IV. 3.1.) wies Werte zwischen 4, 2 und  $5,59 \cdot 10^6$  Erythrozyten/ml Blut auf, dabei

n = 16

$\bar{x}$  = 5,1

s = 0,5

Mittelwert der behandelten Tiere, bei denen die Erythrozytenzahl bestimmt werden konnte bei einer Streuung von 3,2 bis  $6,31 \cdot 10^6$ /ml:

n = 82

$\bar{x}$  = 4,6

s = 0,9

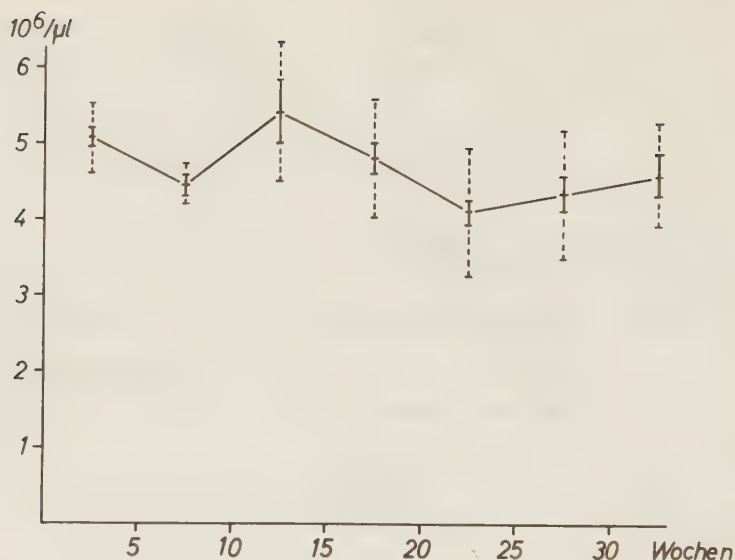


Abb. 4 Die Erythrozytenzahlen von Tötung in 5-wöchentlichen Abständen wurden gemittelt; die Kurve gibt die Verbindung dieser Mittelwerte wieder. Gleichzeitig sind die Standardabweichungen und die Standardabweichungen der Mittelwerte eingezeichnet.

- IV. 4.3.2. Nach anfänglichem Schwanken erreicht die Kurve um die 13. Woche einen Höchststand, um dann bis zur 23. Woche abzufallen. In den letzten 10 Wochen ist dann ein leichter Anstieg der Werte zu verzeichnen.
- IV. 4.3.3. Gegenüberstellung der Mittelwerte von Tieren ohne tumoröse Veränderung und von Tieren mit Carcinomen, das bereits die Muscularis mucosae infiltriert oder

darüber hinausgreift.

| <u>ohne Tu</u>  | <u>mit Ca</u>   |
|-----------------|-----------------|
| n = 13          | n = 33          |
| $\bar{x} = 4,7$ | $\bar{x} = 4,4$ |
| s = 0,6         | s = 0,7         |

Ein zusätzlich zur Prüfung des Unterschieds zwischen diesen beiden Gruppen durchgeführter T-Test ergab mit  $T = 1,05$  keine Signifikanz.

IV.4.3.4. Um eventuelle histologische oder sonstige Gemeinsamkeiten bei Ratten mit besonders niedrigen Werten herauszufinden, wurden die Einzelbeobachtungen der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung bei diesen Tieren miteinander verglichen. Als obere Grenze für diese Aufschlüsselung wurde  $4 \cdot 10^6$  Ery/ml angenommen, eine Zahl, die sowohl deutlich unter Standardabweichung des Kontrollwerts ( $s = 4,4 \cdot 10^6$ ) als auch unter dem Mittelwert der Carcinomtiere (s. 4.3.3.,  $\bar{x} = 4,4 \cdot 10^6$ ) liegt.

Bei 6 besonders niedrigen Werten ( $3,3 - 3,7$ ) waren ausschließlich große, exophytisch wachsende Carcinome oder Peritonealcarcinose zu finden. Die übrigen 5 hatten bei einer Ery-Zahl von  $3,7 - 3,8 \cdot 10^6$  entweder massive lymphozytäre Einwanderung in die Schleimhaut mit Lymphfollikelvergrößerung oder Mucosaatrophie; in 2 Fällen waren je 2 schon makroskopisch erkennbare Carcinome vorhanden.

#### IV. 5. Aldolase-Veränderungen im Serum

IV.5.1. In der Kontrollgruppe wurden Werte zwischen 8,0 und 19,6 mU/ml Serum gefunden.

$$n = 20$$

$$\bar{x} = 13,0$$

$$s = 3,4$$

Mittelwert der cancerisierten Tiere, bei denen die Aldolaseaktivität gemessen werden konnte (Werte von 6,7 - 25,8)

$$n = 82$$

$$\bar{x} = 15,5$$

$$s = 5,0$$

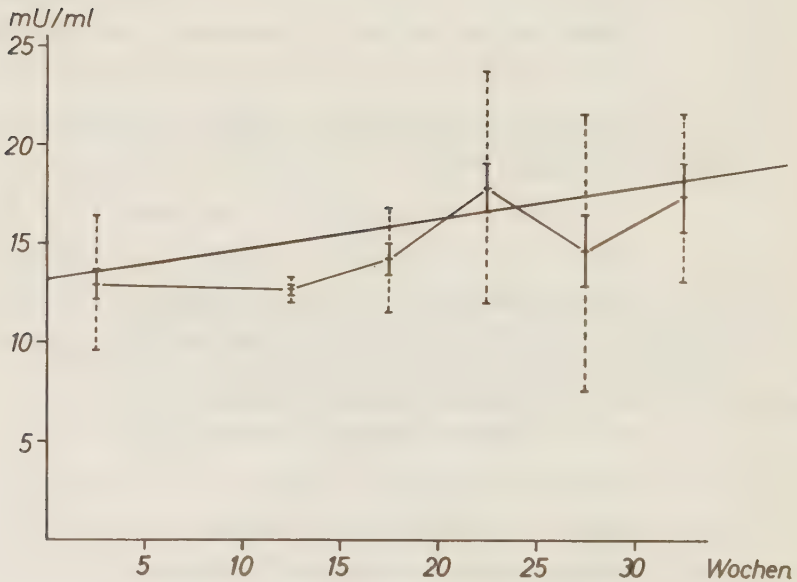


Abb.5 Die Aldolaseaktivität im Serum im Verlauf des Versuchs.

Die Aldolasewerte von Tötung in 5-wöchentlichen Abständen wurden jeweils gemittelt; die erhaltenen Mittelwerte wurden miteinander verbunden. Die Standardabweichungen und die Standardabweichungen der Mittelwerte sind mit eingezeichnet. Die durchgezogene Gerade stellt die Regressionsgerade aus allen ermittelten Aldolaseaktivitäten dar.

IV. 5.2. Die Kurve zeigt bis zur 17. Woche fast keinen Anstieg, um ab diesem Zeitpunkt uneinheitlich zu verlaufen. In der 17. Woche ist ein höherer Mittelwert als bei Versuchsbeginn vorhanden. Die miteingezeichnete Regressionsgerade der Einzelwerte zeigt bei  $p < 1\%$ ,  $r = 0,33$  die Tendenz der Ald-Aktivität im Laufe des Versuchs anzu- steigen.

IV.5.3. Zur weiteren Aufschlüsselung wurden die Mittel- werte der Ald-Aktivität bei verschiedenen Gruppen gebildet:

| <u>ohne Tumor</u> | <u>mit Polyp</u> |
|-------------------|------------------|
| n = 12            | n = 6            |
| $\bar{x} = 15,4$  | $\bar{x} = 17,6$ |
| s = 5,4           | s = 5,4          |

Die Prüfung auf Signifikanz des Unterschieds der Mittelwerte zwischen der Gruppe ohne Tumor und den Carcinom-Gruppen ergaben kein positives Ergebnis.

IV.5.4. Um eine etwaige Übereinstimmung der mikroskopischen Befunde bei den Ratten herauszufinden, die einen besonders hohen Ald-Wert hatten, wurden die Einzel- beobachtungen dieser Tiere miteinander verglichen. Als untere Grenze wurde 19 mU/ml angenommen. Dieser Wert liegt über der Standardabweichung der Kontroll- tiere ( 16,9 ) und auch oberhalb des Mittelwertes der Carcinomtiere mit invasivem Carcinom ( 18,4 ). Es wurden insgesamt 17 Werte über 19 mU/ml gemes- sen. In 3 Fällen waren keine Carcinome nachweisbar;

alle anderen besaßen mindestens ein Carcinom, das bereits die Muscularis mucosae infiltriert hatte. Auffällig war das gehäufte Vorkommen von Lymphfollikelvergrößerungen und massiver lymphozytärer Infiltration bei 12 Tieren.

#### IV. 5.5. Spezifität und Empfindlichkeit

Tabelle 3

die Muscularis mucosae infiltrierendes oder  
über sie hinausgreifendes Carcinom

|                                                                                      | vorhanden | nicht vorhanden |                                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|-----------------|---------------------------------------------------|
| Aldolaseaktivität<br>i. Serum über Standardabweichung des<br>Kontrollwerts<br>erhöht | 20        | 5               | Gesamtzahl der<br>histologischen<br>Beobachtungen |
| nicht erhöht                                                                         | 13        | 44              | 57                                                |
| Gesamtzahl der<br>Aldolasebeobachtungen                                              | 33        | 49              | 82                                                |

IV. 5.5.1. Um die Spezifität der Aldolase-Untersuchung in Bezug auf die erhaltenen Dickdarmcarcinome festzuhalten, d.h. den Prozentsatz der Aldolase-Erhöhungen, bei dem stark infiltrativ wachsende Carcinome nachzuweisen waren, mußte die Gesamtzahl der über die Kontroll-Standardabweichung hinausgehenden Werte weiter aufgeschlüsselt werden:

|                                                                                 |    |            |      |
|---------------------------------------------------------------------------------|----|------------|------|
| Gesamtzahl der Aldolase-<br>erhöhungen                                          | 25 | entspricht | 100% |
| * davon ohne Tumor                                                              | 5  | "          | 20%  |
| * davon mit Carcinom, das<br>Musc.muc. infiltriert<br>oder darüberhinausgreift. | 20 | "          | 80%  |

Bei 80% der Ald-Erhöhungen waren Carcinome nachzuweisen, bei 20% der Ald-Erhöhungen fehlten diese.

IV.5.5.2. Die Empfindlichkeit der Ald-Untersuchung in Bezug auf das erzeugte Carcinom bezeichnet, wieviel der carcinomtragenden Ratten eine Ald-Erhöhung über die Standardabweichung des Kontrollmittelwerts aufwiesen:

|                                                                                    |    |            |      |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|------------|------|
| Gesamtzahl der Carcinom-<br>Träger (Musc.muc. infil-<br>triert oder überschritten) | 33 | entspricht | 100% |
| * davon Ald erhöht                                                                 | 20 | "          | 61%  |
| * davon Ald nicht erhöht                                                           | 13 | "          | 39%  |

Bei 61% der Carcinom-Träger war die Ald über den festgelegten Wert erhöht, bei 39% war dies nicht der Fall.

Die Ald-Bestimmung hat eine hohe Spezifität in Bezug auf das Dickdarmcarcinom der Ratte, eine Erhöhung der Ald-Aktivität im Sinne unserer Definition erfaßt jedoch nur etwa 60% der vorhandenen Carcinom-Träger.

#### IV. 6. Aldolaseaktivität im Serum und Erythrozytenzahl

IV. 6.1. Um eine eventuelle Beziehung zwischen der Erythro-

zytenzahl und der Ald-Aktivität im Serum aufzudecken, wurde der Korrelationskoeffizient für diese beiden Werte errechnet.

Bei  $n = 52$  und  $r = -0,1545$  ( 5% -Schranke: 0,27) ergab sich kein Hinweis auf eine lineare Beziehung zwischen beiden Größen.

#### IV. 6.2. Veränderungen der Erythrozytenzahl und der Aldolaseaktivität im Serum bei Carcinom-tragenden Ratten.

Tabelle 4

Bei Ratten mit Carcinomen, die die Musc. muc. infiltriert bzw. überschritten hatten waren ERNIEDRIGUNG DER ERYTHROZYTENZAH

unter die Standardabweichung des Kontrollwerts

|                                                                      | vorhanden | nicht vorhanden | Gesamtzahlen |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|-----------------|--------------|
| Eine AKTIVITÄTSERHÖHUNG DER ALDOLASE war bei diesen Ratten vorhanden | 6         | 19              | 25           |
| nicht vorhanden                                                      | 6         | 2               | 8            |
| Gesamtzahlen                                                         | 12        | 21              | 33           |

IV. 6.2.1. Von der Gesamtheit der Ratten mit infiltrativ wachsenden Carcinomen ( n= 33) wurde die Zahl derjenigen Fälle gesucht, bei denen sowohl die Erythrozytenzahlen unterhalb als auch die Ald-Werte oberhalb der Standardabweichung des Kontrollmittelwerts lagen.

n = 6, das entspricht 19% aller Ratten mit  
invasivem Carcinom  
(33) (Tab.2)

24% aller gemessenen  
Ald-Erhöhungen  
(25) ( s.Tab.3)

30% der gemessenen Ald-  
Erhöhungen bei in-  
vasivem Carcinom  
(20) (s. Tab.3)

Das bedeutet, in 76 % der Ald-Erhöhungen liegt keine Erythrozytenerniedrigung vor, und in rund 70% der Ald-Erhöhungen bei invasivem Carcinom ebenfalls nicht.

## V. D I S K U S S I O N

### V. 1. Krebsentwicklung

Die Vorstadien und -stufen der beobachteten Carcinome und ihre Entwicklung entsprechen den von SPRINGER P. et al angegebenen. Auch bei ihnen waren Proliferationssteigerungen, Verlust der Becherzellen, vergrößerte Lymphfollikel die ersten Veränderungen, die bei gleicher DMH-Dosis in den ersten 5 Wochen bei Versuchsratten auftraten. Sie wurden als entzündliche Veränderungen gedeutet. WIEBECKE B. et al (1) geben Schleimhauthyperplasien mit Verbreitung der Proliferationszone bei erhaltener Ausdifferenzierung der Zellen als erste Veränderung bei dieser Art der Krebserzeugung an, was teilweise in den vorliegenden Präparaten bestätigt werden konnte.

Die ersten Papillome, Adenocarcinome oder Gallertcarcinome mit Siegelringzellen traten bei SPRINGER P. et al nach 9 Wochen auf; in unserer Untersuchung jedoch erst nach 17 Wochen Inkubationszeit.

Daß ab diesem Zeitpunkt im vorliegenden Experiment gleichzeitig Polypen, de novo-Carcinome ( WIEBECKE B. et al (1)) oder aber invasiv wachsende Carcinome gefunden wurden, spricht für die Hypothese, daß die Tumor-Entwicklung im Dickdarm der Ratte nicht an ein polypöses Vorstadium gebunden sein muß ( WIEBECKE B. et al (1)). Da im Gesamten betrachtet jedoch die

Zahl der beobachteten Carcinome mit der Zeit beständig anstieg, die der Polypen jedoch abnahm, kann die von SPRINGER P. et al beschriebene Abfolge der Veränderungen: Entzündung, Verlust der Differenzierung, papilläre Proliferation, Polypenentstehung, Entartung als bestätigt angesehen werden.

Die Fälle mit ausgedehnter Mucosaatrophie können als Folge von abgelaufenen schweren Colitiden gedeutet werden.

Die Formen der erzeugten Tumoren: gestielt oder breitbasig aufsitzende adenomatöse Polypen, Adenocarcinome, Gallertcarcinome mit Siegelringzellen oder Mischtypen - entsprechen den von anderen gefundenen ( SCHAUER A. et al ( 1 und 1 ), SPRINGER P. et al, WEISBURGER J.H.).

Die zahlenmäßige Verteilung der gefundenen Änderungen ist mit ein Ausdruck dafür, daß vom Entzündungsstadium ab sämtliche Veränderungsformen zu jeweils dem gleichen Zeitpunkt nachweisbar waren. Auch waren bis zur 26. Woche sogar noch Tiere ohne jede nachweisbare Veränderung anzutreffen. Die Begründung hierfür kann darin liegen, daß im Gesamten gesehen zwar eine hohe Induktionsrate für Veränderungen - meist Carcinome - besteht, daß aber die Einzeltiere individuell reagieren und teilweise auch bei längerer Induktionsdauer einer Carcinomentstehung widerstehen.

## V. 2. Gewichtsverhalten

Aus Abb. 1 geht hervor, daß cancerisierte Ratten im Gegensatz zu nicht behandelten schon sehr früh eine verzögerte Gewichtszunahme zeigen. Dies könnte auf die in diesem Zeitraum im Darm bereits ablaufende Entzündung zurückzuführen sein: Ein signifikanter Gewichtsunterschied zwischen diesen Gruppen liegt im Zeitraum zwischen der 8. und 14. Woche, in dem lediglich Entzündungsveränderungen festgestellt wurden.

Andererseits wird von WEISBURGER J.H. die Möglichkeit erörtert, daß bei der Metabolisierung des DMH in einem Nebenweg des Abbaus hochtoxisches, aber nicht cancerogenes Methylhydrazin und Formaldehyd entsteht. Es könnte daher auch sein, daß die Gewichtsunterschiede zu dieser relativ frühen Zeit auf eine Intoxikation mit diesen Substanzen zurückzuführen ist. Diese Möglichkeit wäre auch bei den 8 Ratten zu erwägen, die bis zur 12. Woche ohne makroskopische oder mikroskopisch erkennbare Ursache starben.

Obwohl, absolut gesehen, die cancerisierten Tiere von der 14. bis zur 20. Woche ein niedrigeres Gewicht hatten, nahmen sie in dieser Zeit etwa im gleichen Maße wie die Kontrolltiere zu, die etwa in der 10. Woche ihr Erwachsenengewicht erreicht hatten. Daß sich im Zeitraum zwischen der 14. und 22. Woche kein signifikanter Gewichtsunterschied zwischen den beiden Gruppen ergibt, spricht zusammen mit der oben erwähnten

Gewichtszunahme für einen Erholungsvorgang. Dieser könnte darin begründet sein, daß bei vielen Ratten die Entzündung gegenüber der Polypenentstehung in den Hintergrund gerät.

Der einheitliche Gewichtsverlust ab der 22. Woche bei den behandelten Tieren geht mit dem massierten Auftreten von Carcinomen aller Art einher. Hier ist die Wirkung der Tumor-Kachexie zu vermuten.

Wenn auch bei Gesamtheit in dieser Weise reagiert, so gilt dies für das Einzeltier jedoch nur mit Einschränkungen:

Bei wenigen Tieren war bis zum Tötungszeitpunkt kein Gewichtsabfall zu verzeichnen. Da jedoch auch sie in ihrer Gewichtszunahme schon mehrere Wochen stagniert hatten, kann in der vorliegenden Untersuchung die Beobachtung von WITTIG G. et al nicht bestätigt werden, daß bei Krebserzeugung mit DMH bei der Ratte zwischen Geschwulstentstehung und Körpergewicht eine direkte Beziehung besteht: Tiere mit guter Gewichtszunahme waren bei ihnen meist Geschwulstträger; dabei wurde die Gewichtszunahme jedoch eventuell durch Ascitesbildung vorgetäuscht.

Die unterschiedlichen Standardabweichungen zwischen den beiden untersuchten Gruppen werden als Ausdruck der unterschiedlichen Einzelreaktion bei den behandelten Tieren gedeutet. Die Zunahme der Standardabweichung bei den gespritzten Tieren gegenüber der relativen Konstanz dieses Wertes bei der Kontroll-

gruppe kann nur als eine fortwährende Vergrößerung der Bedeutung der Einzelreaktion gedeutet werden. Dies fällt umso mehr ins Gewicht, als die Anzahl der gewogenen Tiere in der behandelten Gruppe mit der Zeit geringer wird.

Die Einzelreaktion in Bezug auf das Gewichtsverhalten ist bei gleicher DMH-Dosis individuell anders. Dies deckt sich mit der bei der Krebsentwicklung gemachten Beobachtung. Die Standardabweichung entspricht der Streuung der Gewichte, die als Ursache die Vielfalt der jeweils angeordneten Veränderungen hat.

#### V. 3. Fibrinogenveränderungen

Die von uns gefundene Kontrollwert von  $193 \pm 27$  mg/100 ml Plasma stimmt mit den von HILGARD P. und HIEMEYER V. ( $195 \pm 19$ ) und von WYCOFF H.D. ( $205$ ) bei Wistar-Ratten gefundenen Normalwerten überein.

Daß der Mittelwert der mit DMH gespritzten Tiere mit 186,5 unterhalb des Kontrollwerts von 193 mg/100 ml Plasma liegt, steht im Widerspruch zu der Tatsache, daß beim Menschen beim Vorliegen von Carcinomen häufig der Fibrinogenspiegel erhöht ist.

( MILLER S.P. et al, SOONG B.C.F. und MILLER S.P., STRAUB P.W. und KESSLER S., YOUNG E.G. und WEBBER R.V., PRELLWITZ W.). Auch bei der Ratte wurde bei Vorhandensein von Malignomen ein Anstieg beis  $340 \pm$

22 mg/100 ml Plasma gefunden ( HILGARD P. und HIEMEYER V.). Die Differenz zwischen Kontrollmittelwert und pathologischem Mittelwert, die wir fanden, relativiert sich in ihrer Bedeutung angesichts der Tatsache, daß letzterer keinesfalls außerhalb der Standardabweichung des Kontrollwerts liegt. Ausserdem gehen in den Mittelwert der cancerisierten Tiere 19 Tiere ein, die keinen Krebs entwickelt hatten und somit zu einer Erhöhung nicht beitragen konnten.

Die Gegenüberstellung in IV.3.2. verdeutlicht, daß auch bei sicher vorhandenen Carcinomen nicht mit einer generellen Fibrinogen-Spiegel-Erhöhung gerechnet werden konnte. Ein auffälliger Unterschied besteht lediglich in der fast doppelt so großen Standardabweichung der Carcinom-Tiere gegenüber den Kontrollratten. Unter solchen pathologischen Verhältnissen müssen also die Einzelwerte stark streuen.

Daß es bei den erzeugten Carcinomen nicht zu einem synchronen Anstieg des Plasma-Fibrinogen-Spiegels kam, ist möglicherweise auf das teilweise Fehlen von nekrotischem Gewebe zurückzuführen, aus welchem nach HILGARD P. und HIEMEYER V. die Freisetzung eines die Fibrinogen-Synthese stimulierenden Faktors erfolgt. Vielleicht konnte es bei vielen Tieren nicht zu massiven Auftreten von Nekrosen kommen, weil sie vorher getötet wurden. Oder aber der Grad der erreichten Nekrosen reichte für eine Fibrinogen-Erhöhung nicht aus.

Eine Erhöhung des Fibrinogen-Spiegels bei Malignomen wird darüberhinaus als Ausdruck einer erhöhten Utilisationsrate von Koagulationsfaktoren angesehen, die zu einer kompens-

torischen Überproduktion von Gerinnungsfaktoren führen könnte ( MILLER S.P. et al, SOONG B.C.F. und MILLER S.P., GRANNIS G.F.). Diese Störung im Gerinnungssystem scheint in Anbetracht der in unserer Studie gemachten Beobachtungen nicht allein durch die Bestimmung des Fibrinogen-Spiegels im Plasma erfassbar sein.

Die große Streuung der Werte läßt auch hier den Schluß zu, daß die Einzeltiere verschieden große Dosen von DMH benötigen, um eine Reaktion zu zeigen.

#### V. 4. Blutbildveränderungen

##### V. 4.1. Hämatokritwert

Der Mittelwert aus den cancerisierten Tieren ist gegenüber dem Kontrollwert nur unwesentlich um 3% vermindert. Auch die Standardabweichungen zeigen nur einen Unterschied von ca. 1%.

Abb. 2 zeigt, daß auch im Laufe des Versuchs kaum bedeutungsvolle Unterschiede in den gemessenen Hämatokritwerten vorkamen. Dem geringfügigen Abfall zwischen der 13. und 23. Woche kann nicht allzu-große Bedeutung zugemessen werden, da die Kurve auch schon vorher nicht ganz einheitlich verläuft. Dies muß möglicherweise als Schwankung innerhalb des Normalen angesehen werden.

Die Aufschlüsselung von IV. 4.1.3. zeigt, daß in beiden Gruppen gegenüber dem Kontrollwert bereits eine geringfügige Erniedrigung vorhanden ist, daß aber selbst bei invasiven Carcinomen keine generelle Veränderung des Hämatokrit-Werts gegenüber den Tieren, die noch nicht mit einer tumorösen Veränderung geantwortet haben, zu erwarten ist.

#### V. 4.2. Hämoglobin und Erythrozytenzahl

Sowohl die Mittelwerte als auch die Standardabweichungen der beiden Gruppen: Kontrolltiere und cancerisierte Tiere unterscheiden sich bei beiden Größen in nicht ganz unerheblichem Maße. Der Mittelwert der behandelten Ratten liegt beim Hb um 1.6 g/100 ml Blut unter dem Kontrollwert, der Erythrozytenwert um 0,5 Mill./ml Blut unter dem Kontrollwert. Dies gibt einen Hinweis darauf, daß eine Verminderung beider Größen unter den Versuchsumständen eingetreten war.

Wie diese Veränderung zeitlich erfolgte, ist in Abb. 3 und 4 dargestellt. Vom Versuchsbeginn bis zur 13. Woche -das ist die Zeit der Entzündungsveränderungen- fällt eine Schwankung sowohl des Hb-Spiegels als auch der Erythrozytenzahlen auf. Erst nach der 13. Woche, d.h. nach dem Entzündungsstadium und 4 Wochen bevor die ersten tumorösen Veränderungen auftraten, fallen beide Größen ziemlich einheitlich bis zu einem Tiefst-

wert ab. Dieser Abfall ist bis zur 23. Woche praktisch abgeschlossen. In diesen Zeitraum fällt das gehäufte Auftreten aller möglichen Veränderungsformen und -stadien. Da die Mittelwerte quasi Resultanten aller Einzelveränderungen darstellen, muß zunächst offenbleiben, ob die Erniedrigung des Hämoglobin - und des Erythrozyten mittelwerts durch eine einheitliche Erniedrigung bei allen Veränderungsformen oder aber durch eine besonders große Erniedrigung bei Tieren mit bestimmten Veränderungen ( z.B. mit Carcinomen) bei geringer Erniedrigung im Gefolge anderer Veränderungen ( z.B. Entzündungen) zustande kommen.

Das Verhalten der beiden Kurven nach der 23. Woche ist unterschiedlich: der Hämoglobinwert bleibt auf dem Tiefststand, die Erythrozytenzahl steigt jedoch wieder leicht an. Fast alle in diesem Zeitraum getöteten Tiere wiesen Carcinome auf. Das Ansteigen könnte mit einer Art Erholungsprozeß in Bezug auf die roten Blutkörperchen erklärt werden, der nach Ablauf der Vorstadien, nach Entstehung eines Carcinoms, stattfände.

Die Frage, welche mikroskopische Veränderung welcher Veränderung des Hämoglobin-Werts und der Erythrozytenzahl im Allgemeinen entspricht, kann mithilfe der Gegenüberstellung der Gruppen in IV.4.2.3. und IV. 4. 3.3. beantwortet werden: schon die Tiere ohne Tumoren, die jedoch zur Hälfte bereits entzündliche Verände-

rungen hatten, zeigen eine Erniedrigung des Hämoglobinspiegels und der Erythrozytenzahlen. Die Mittelwerte liegen schon bei ihnen außerhalb der Standardabweichung der Kontrollmittelwerte; besonders ausgeprägt ist der Abfall der Werte bei Tieren mit Carcinomen.

Daß aber selbst bei den Carcinomtieren keine signifikante Erniedrigung der Erythrozytenzahlen im Vergleich zu den tumorlosen Tieren festgestellt werden konnte, ist ein Ausdruck dafür, daß die immerhin geringgradige Erniedrigung zum großen Teil schon vor der Entwicklung des Carcinoms abgelaufen sein muß. Bei der Hämoglobin-Veränderung ist diese Tatsache nicht im gleichen Maße ausgeprägt.

Aus den Beobachtungen wird geschlossen, daß ein Hämoglobin- und ein Erythrozytenabfall schon in den Vorstadien des hier erzeugten Carcinoms einsetzt, um sich bei vorhandenem Carcinom vollends zu manifestieren. Die Veränderungen selbst sind dabei milde. Entzündungsveränderungen in der Darm-schleimhaut bewirken eine vorübergehende Erniedrigung der Werte, die nach Übergang in das polypöse Stadium beendet zu sein scheint.

Wie aus IV. 4.3.4. hervorgeht, sind auch besonders niedrige Erythrozytenzahlen nicht eindeutig einer

einzigsten Veränderungsart, z.B. Carcinom, zuzuordnen: Auch die Mucosaatrophie ohne carcinoma-töse Veränderungen hatte auffallend niedrige Werte. Dies lenkt die Aufmerksamkeit darauf, daß Verminderung der Erythrozytenzahlen keine ausschließlich bei Malignomen anzutreffende Änderung des Blutbilds ist, und selbst, wenn bei einem vorliegenden Malignom vorhanden, noch mehrere Ursachen haben kann:

- a) Eine chronische Blutungsanämie größeren Ausmaßes durch Blutverluste im Magen-Darm-Trakt, bei der der Hämatokrit-Wert bei unverändertem Blutgesamtvolumen vermindert ist ( PRIBILLA W.), der Hämoglobinwert erniedrigt ( POLLYCOVE M.), scheidet bei der vorliegenden Untersuchung wegen der geringen Hämatokritveränderung ( s.IV 4.1.) aus.
- b) Eine verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten, die bei Krebspatienten beobachtet wird ( PRELLWITZ W., HEVESY G.v.), muß wegen der kompensatorischen Erythrozyten-Neubildung nicht unbedingt eine Verminderung der Erythrozytenzahl im Blut zur Folge haben ( HEVESY G.v.). Dies könnte die nur milde Veränderung der in dieser Untersuchung festgestellten Werte erklären.

Auch der Hämatokritwert ist in diesem Falle nicht zwangsläufig verändert ( HEVESY G.v.). Der bei dieser Studie leicht verminderte Hämoglobingehalt des Blutes, der auch bei Krebskranken häufig angetrof-

fen wird ( PRELLWITZ W., PRIBILLA W., HEVESY G.v.), kann einerseits auf das im Organismus eines Krebs-trägers häufig erhöhte Blutvolumen zurückgeführt werden. Der erniedrigte Hämoglobinspiegel beweist dann nicht das Vorliegen einer Anämie ( HEVESY G.v.). In diesem Falle ist auch, infolge des erhöhten Plasmavolumens, der Hämatokritwert erniedrigt, was in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet werden konnte.

Andererseits kann auch eine Verminderung des Hämoglobins vorliegen, die nicht allein der Vergrößerung des Plasmavolumens zugeschrieben werden kann, Als eine Ursache dafür wird ebenfalls die Verkürzung der Erythrozytenlebensdauer diskutiert ( HEVESY G.v.).

#### V. 5. Aldolase (Ald)-Aktivitätsänderungen

Der Vergleich der Mittelwerte von Kontrollgruppe und behandelten Tieren mit einer Differenz von 2,5 mU/ml läßt eine Veränderung im Laufe der Krebserzeugung schon vermuten.

In Abb. 5 bestätigt sich diese Annahme. In der Periode, in der das Entzündungsgeschehen die Oberhand hat ( bis zur 17. Woche) bleibt der Wert praktisch konstant auf dem Kontrollniveau. Erst das häufige Auftreten von Carcinomen geht mit einer gewissen Erhöhung des Ald-Werts einher. Abgesehen von der Schwankung zwischen der 25. und 32. Woche hält der erreichte Wert das Niveau in der Zeit, in der überwiegend

gend Carcinome gefunden wurden. Malignome, die bei Ratten mit einer Ald-Erhöhung im Serum einhergingen, wurden von WARBURG O. und CHRISTIAN W. am Jensen-Sarkom und von SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L. am Sarcoma 39 und am Walker-Carcinosarkom beschrieben.

Trotz der in Abb. 5 fehlenden Ald-Reaktion auf die Entzündung ist bei den Tieren aus der cancerisierten Gruppe, die keinen nachweisbaren Tumor hatten, der Mittelwert der Ald etwa schon um die Hälfte des Betrages angestiegen um den die Ald-Aktivität der Carcinomtiere größer ist als der Kontrolltiere. Daher muß auch bei diesen Tieren die Ursache der Erhöhung schon wirksam sein.

Eine besonders hohe Ald-Aktivität wurde jedoch fast ausschließlich bei stark infiltrativ wachsenden Carcinomen mit starker lymphatischer Reaktion als Ausdruck der Aktivität des Tumors gefunden, was auf einen Zusammenhang zwischen Carcinomen und Ald-Aktivität hinweist. Von SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L. und WARBURG O. und CHRISTIAN W. wird der Zusammenhang zwischen der Größe der Carcinome und der Ald-Erhöhung betont. Die Angabe von WARBURG O. und CHRISTIAN W., daß die Aldolase besonders bei großen Tumoren mit einem Gewicht über 2% des Körpergewichts erhöht ist, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht generell bestätigt werden.

Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Carcinomen und der Aldolase-Aktivitätserhöhung wird durch die Spezifität und Empfindlichkeit der Ald-Bestimmung in Bezug auf die erzeugten Carcinome zahlenmäßig näher definiert ( siehe IV. 5.5.1. und IV. 5.5.2.).

Mit der hohen Spezifität von 80% kann bei der vorliegenden Untersuchung aufgrund einer Ald-Erhöhung ein Carcinom angenommen werden. Im Hinblick auf eine diagnostische Aussagekraft verliert diese Zahl erst an Bedeutung, wenn eine Frühdiagnose betrieben werden soll; denn in diese Zahl gehen auch sämtliche großen, bereits stark infiltrativ wachsenden Tumoren mit ein. Es ist zu bemerken, daß bei Erniedrigung der Kriterien für eine Aldolase-Erhöhung mehr Carcinome erfaßt werden könnten, dafür würde aber auch eine größere Zahl von nicht carcinombedingten Erhöhungen miterfaßt, d.h. die Spezifität würde sich auf Kosten der Empfindlichkeit erhöhen. Beim Menschen ist in der Nachsorge Carcinomkranker bei einer pathologischen Ald-Erhöhung mit 87% Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv und/oder Metastasen anzunehmen ( DALLÜGE K.H. et al). Die Spezifität, d.h. die Treffsicherheit unter diesen Bedingungen wird von denselben Autoren für das Adenocarcinom mit 100% angegeben.

Die Bestimmung der Ald-Aktivität wird außer für den Prostatakrebs nur für die Nachsorge empfohlen ( DALLÜGE K.H. et al). In Bezug auf Primärtumoren wird der Ald-Bestimmung keine diagnostische Aussagekraft zugemessen, weil die Enzymaktivität fast nur im unbehandelten Spätstadium erhöht ist ( MERTEN R. und SOLBACH H.G., SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L., BAKER R. und GOVAN D., DALLÜGE K.H. et al).

Die Einschränkung der Bedeutung der Aldolase-Aktivität für die Tumorsuche wird auch deutlich durch die von HOLSTI L.R. gefundene Empfindlichkeit von 39% und die von DALLÜGE K.H. et al gefundene von 19%. Die in dieser Studie gefundene

Empfindlichkeit des Tests beträgt 61%. Diese Zahl bedeutet, daß etwa 40% der Carcinomträger bei einer pathologischen Ald-Erhöhung unentdeckt blieben, wobei unter diesen alle Stadien von Carcinomen zu finden waren, also auch weit fortgeschrittene, wahrscheinlich unbehandelbare Carcinome.

#### V. 6. Zur Herkunft der Aldolase (Ald) bei Carcinomträgern

Bezüglich der Herkunft der Ald im Plasma Tumorkranker wird von WARBURG O. und CHRISTIAN W. das Tumorgewebe selbst, das Muskelgewebe, oder die Erythrozyten diskutiert.

In der Tumorzelle ist aufgrund einer um Wesentliches gesteigerten Glycolyse mit einer Ald-Erhöhung zu rechnen (HOSEIN E.A. et al. PÜTTER J., WARBURG O. und CHRISTIAN W. und HESS B.). Bei einer Zellzerstörung durch Störung der Energieversorgung oder aufgrund der Änderung der Zellmembran-Permeabilität kommt es zur Enzymausschüttung (KRÖNER H.). Für eine direkte Beziehung zwischen der Serum-Ald und dem Vorhandensein von lebensfähigen Tumorzellen sprechen auch die Beobachtungen, daß bei Experimenten mit Ratten a) nach vollständiger operativer Entfernung der Tumoren die Serum-Ald-Konzentration prompt auf normale Werte fiel, und b) eine „Autoexcision“ (SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L.) durch massive Abstoßung eines großen nekrotischen Tumors ebenfalls zu einem Abfall der Ald-Werte führte (SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L.). Wenn nekrotische Tumoren nicht mit einer Ald-Erhöhung einhergehen, so ist die in dieser Untersuchung gemachte Be-

obachtung verständlich, daß die besonders hohen Ald-Aktivitäten nicht bei exophytisch wachsenden Tumoren, die oft nekrotisch waren, sondern bei solchen, die noch die Zeichen einer Umgebungsreaktion ( FISCHER W. und KÜHL J.) als Ausdruck ihrer Aktivität trugen, auftraten.

Die Tatsache, daß im Muskelgewebe die höchste Ald-Aktivität im Körper anzutreffen ist ( WARBURG O. und CHRISTIAN W.) bildet die Grundlage der Aldolase-Tests bei Muskelerkrankungen ( AMELUNG D., DREYFUS J.C. et al). Ein Erhöhungsmechanismus könnte bei einer Permeabilitätsstörung, bei einer Störung der Synthetisierungsrate oder des Abbaus von Muskelprotein in Gang kommen, oder aber er könnte unter Hormonkontrolle stehen ( DREYFUS J.C. et al, HOSEIN E.A. et al). Den muskulären Ursprung der Ald-Erhöhung bei Malignomen diskutiert WARBURG O. und CHRISTIAN W., während SIBLEY J. A. und LEHNINGER A.L. diese Möglichkeit in Frage stellen, angesichts einer von ihnen gefundenen hohen Ald-Aktivität in Leber und Niere. Eine Beteiligung dieser Organe ist auch wegen der Vielzahl der Ursachen ( HOSEIN E.A. et al, KRÖNER H., COODLEY E.L. (1)) eines Enzymaustrittes aus Zellen nicht auszuschließen.

Eine Beziehung zwischen den Erythrozyten, die ebenfalls Ald enthalten, und einer Ald-Aktivitätserhöhung bei Tumoren wird von WARBURG O. und CHRISTIAN W., und SIBLEY J.A. und LEHNINGER A.L. erwogen. Im Rahmen einer unter solchen Verhältnissen vorkommenden hämolytischen oder

hämorrhagischen Anämie werden Erythrozyten zerstört und somit kann es zu einem Ald-Anstieg kommen.

Eine lineare Beziehung zwischen der Erythrozytenzahl und der Ald-Aktivität im Serum ist angesichts des Kurvenverlaufs von Abb. 4 und Abb. 5 nicht zu erwarten und wird auch durch die Berechnung der Korrelation in IV.6.1. nicht bestätigt.

Nur bei 24% der Ald-Erhöhen über die Kontroll-Standardabweichung ist gleichzeitig eine Erythrozytenverminderung festzustellen. Bei  $3/4$  aller Ald-Erhöhen waren die Erythrozytenzahlen im Bereich des Normalen. Selbst bei 70% der Aldolaseerhöhungen bei infiltrativ wachsenden Carcinomen, wo am ehesten eine Beziehung zu erwarten wäre, fehlt die Erythrozytenerniedrigung. Auch dies spricht dafür, daß zwischen beiden Meßgrößen keine Beziehung vorliegt. Diese ist generell dann nicht zu erwarten, wenn die kompensatorische Erythrozytenneubildung (HEVESY G.v.) in Anrechnung gebracht wird.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 90 Ratten wurden mit wöchentlichen subcutanen Injektionen von 1,2-Dimethylhydrazin Colon-Carcinome erzeugt. Im Verlauf der Cancerisierung wurden die Tiere in regelmäßigen Abständen gewogen und Gruppen von ihnen getötet. Die Därme wurden histologisch untersucht, im Blut der Tiere wurden das Plasma-Fibrinogen, der Hämatokrit-Wert, das Hämoglobin, die Erythrozytenzahl und die Serum-Aldolaseaktivität bestimmt.

Bei der Mehrzahl der Ratten entstanden Adenocarcinome. Im zeitlichen Ablauf waren zuerst überwiegend Entzündungen, gesteigerte Proliferation, dann Polypen, später Carcinome oder aber gleichzeitig alle Stadien festzustellen, wobei die Einzeltiere individuell verschieden spät mit einer dieser Veränderungen reagierten.

Das Gewichtsverhalten ist durch drei Stadien gekennzeichnet. Während des Entzündungsstadiums herrscht eine geringere Gewichtszunahme als bei nicht cancerisierten Ratten vor, nach Ablauf dieser Phase ist sie wieder annähernd normal. Das letzte Stadium war die Tumor-Kachexie. Die Gewichte waren im Vergleich zu nicht cancerisierten Tieren stets tiefer.

Der Fibrinogenspiegel im Plasma ändert sich während der Cancerisierung bei der Gesamtheit nur wenig. Auch bei carcinomtragenden Tieren war Fibrinogen nicht generell erhöht; als Ausdruck einer Störung im Gerinnungssystem streuten die Werte jedoch stark.

Der Hämatokritwert blieb während der Untersuchung nahezu

auf dem Normalniveau; Hämoglobin und Erythrozytenzahl hatten mit Fortschreiten der Cancerisierung geringfügig niedrigere Werte. Die Erniedrigung erfolgte zum größten Teil schon vor der Ausbildung von Tumoren, bei Beginn der Tumor-Entwicklung ist sie dann weniger ausgeprägt. Besonders niedrige Erythrozytenzahlen waren nicht nur bei Carcinomen zu finden, sondern auch bei ausgeprägten entzündlichen Veränderungen.

Die Aldolase-Aktivität im Serum stieg mit Ablauf des Entzündungsstadiums an. Mithilfe einer über den Normbereich erhöhten Aldolase-Aktivität im Serum wurden 60% der Carcinom-Träger mit über die Mucosa hinausreichendem Carcinom vorausgesagt. 40% der Carcinom-Träger blieben dabei unentdeckt.

Eine Herkunft der Aldolaseerhöhung im Serum aus zugrundegegangenen Erythrozyten neben geschädigten Tumor- oder Muskelzellen konnte nicht ausgeschlossen werden. Aldolase-Erhöhungen waren dabei zum größten Teil nicht mit Erythrozyten-Verminderung gekoppelt.

## VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

AMELUNG, D.:

Fermentdiagnostik interner Erkrankungen.

Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1964

ANONYM:

Further Chapters in the Hydrazine Story, in:

Food and Cosmet.Toxicol. 9, 724 - 728, Oxford

(Engl.) Oct. 1971

BAKER, R., GOVAN, D.:

The Effect of Hormonal Therapy of Prostatic Cancer  
on Serum Aldolase.

Cancer Res. 13, 141 - 146, 1953

BRUNS, F., PULS, W.:

Die Aktivität der Serumaldolase bei Erkrankungen  
der Leber. Ein neuer enzymatischer Test.

Klin.Wschr. 32, 656 - 660, 1954

BUDDECKE, E.:

Grundriss der Biochemie.

Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin, 1971

CAMPBELL, R.C.:

Statistische Methoden für Biologie und Medizin.

Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1971

CLAUSS, G., EBNER, H.:

Grundlagen der Statistik für Psychologen, Pädagogen  
und Soziologen.

Verlag Harri Deutsch, Frankfurt/M. und Zürich, 1971

COODLEY, E.L.:(1):

Enzyme diagnosis in Hepatobiliary Disease.  
Amer. J. Gastroenterol. 52, 189 - 205, 1969

COODLEY, E.L.:(2):

Enzyme Diagnosis in Hepatic Disease.  
Amer. J. Gastroenterol. 56, No. 5, 413 - 419, 1971.

COTCHIN, E., ROE, F.J.C.(Hrg):

Large Intestine, Rat, in: Pathology of Laboratory  
Rats and Mice: Induced Tumors of the Alimentary Canal,  
75 f, Blackwell, Oxford (Engl.), 1967

DALLÜGE, K.H., EICHORN, H.J., ZIEGENBEIN, R., HÜTTNER, J.,  
RICHTER, E.:

Die Wertigkeit von Serumfermentuntersuchungen für die  
Erkennung von Rezidiven und/oder Metastasen bösartiger  
Geschwülste.

Dtsch.Gesdws., 46, 2153 - 2158, (26.Jahrg.), 1971

DEUTSCH, E., GEYER, G.(Hrg.):

Laboratoriumsdiagnostik. Normalwerte und Interpretation.  
Verlag August Steinkopf, Berlin, 1969

DREYFUS, J.C., SHAPIRA, G., SHAPIRA, F.:

Serum Enzymes in the Physiopathology of Muscle.  
Ann. N. Y. Acad. Sci. 75, 235 - 249, 1958

DRUCKREY, H.:

Krebserzeugung durch chemische Substanzen, in:  
Fortschritte der Krebsforschung, 37 - 65,  
Schattauer-Verlag, Stuttgart und New York, 1969

DRUCKREY, H., LANGE, A.:

Carcinogenity of Azoxymethane Dependant on Age in BD  
Rats.

Fed. Proc., Vol. 31, No. 5, 1482 - 1484, 1972

DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., MATZKIES, F., IVANKOVIC, S.:  
Selektive Erzeugung von Darmkrebs bei Ratten durch  
1,2-Dimethylhydrazin.  
Nat.Wiss. II, 285 - 286, ( 54.Jahrg.) 1967.

EDER, M.:  
Neue morphologische Aspekte der Magen-Darm-Tumoren, in:  
Fortschritte der Krebsforschung, 119 - 127  
Schattauer-Verlag, Stuttgart und New York, 1969

EVANS, J.T. LUTMANN, G., MITTELMAN, A.:  
The Induction of multiple Large Bowel Neoplasma in  
Mice.  
J.Med. 3, 212 - 215, 1972

FISCHER, W., KÜHL, J.:  
Gewebsreaktionen bei spontan und experimentell erzeug-  
ten Geschwülsten, in:  
Geschwülste der Laboratoriumstiere, 220 - 225,  
Verlag Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig, 1958

FRIEDEMANN, H., WAGENKNECHT, C.:  
Die Bedeutung von Serum-Enzymuntersuchungen für die  
Epidemiologie der Hepatitis infectiosa.  
Zbl.Pharm.Pharmakother.Laboratoriums diagn. 110,  
Nr. 7, 697 - 712, 1971

GRANNIS, G.F.:  
Plasma Fibrinogen: Determination, Normal Values,  
Physiologic Shifts and Fluctuations.  
Clin.Chem. 16, Nr. 6, 486 - 494, 1970

GROSS, R.:  
Internistische Behandlung von Tumorleiden, in:  
GROSS, R., JAHN, D., SCHÖLMEICH, P.:  
Lehrbuch der Inneren Medizin, 1031 - 1045,  
Schattauer-Verlag, Stuttgart und New York, 1970

HAWKS, A., SWANN, P.F., MAGEE, P.N.:

Probable Methylation of Nucleic Acids of Mouse Colon  
by 1,2 Dimethylhydrazine in vivo.

Biochem. Pharmacol, 21, 432 - 433, 1972

HESS, B.:

Zwischenstoffwechsel, in:

ZÖLLNER, N.: Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels  
und der Stoffwechselkrankheiten, 89 - 118,

Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1957

HEVESY, G. von:

Die Krebsanämie.

Naturw. Rd., 7, 247 - 252, ( II. Jahrg.), 1958

HILGARD, P., HIEMEYER, V.:

Increased Plasma Fibrinogen and the Release of a  
Fibrinogen Enhancing Factor in Tumor-bearing Rats.

Experientia, Basel, 26, No. 2, 182 - 183, 1970

HOLSTI, L.R.:

Serum Enzyme Activity During Radiotherapy of Malignant  
Tumor.

Brit.J.Cancer 19, 134 - 138, 1965

HOSEIN, E.A., PANG, D., TESFAYE, Y.:

Some Biochemical Actions of Carnitylcholin, a Neuromus-  
cular Blocking Agent.

Biochem.Pharmacol. 20, No. 12, 3385 - 3395, 1971

KEIDERLING, W. (Hrg):

Die infektiöse und neoplastische Eisenstoffwechsel-  
störung, in: Eisenstoffwechsel, Beiträge zur For-  
schung und Klinik, 155 - 168,

Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1959

KORTING, G.W.:

Dermatologisches Grundwissen.

Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart 1973

KRÖNER, H.:

Zellschädigung und Serumenzyme.

Ein Beitrag zum Mechanismus der Enzymausschüttung.

Dtsch.med.Wschr. 96, Nr. 13, 551 - 593, 1971

LAQUEUR, G.L.:

The Induction of Intestinal Neoplasms in Rats with the Glycoside Cycasin and its Aglycone.

Virchows Arch.path.Anat. 340, 151 - 163, 1965

LUJF, A., SLUGA, E., MOSER, K.:

Beiträge zur progressiven Muskeldystrophie II.

Enzymaktivitätsänderungen im Serum bei progressiver Muskeldystrophie.

Wien.klin.Wschr. 83, Nr. 7, 109 - 113, 1971

MERTEN, R., SOLBACH, H.G.:

Enzymverteilungsmuster des glykolytischen Systems und Citronensäurecyclus im Plasma Krebskranker.

Klin.Wschr. 39, 222 - 232, 1961

MILLER, S.P., SANCHEZ-AVALOS, J., STEFANSKI, T., ZUCKERMAN, L.:

Coagulation Disorders in Cancer. I. Clinical and Laboratory Studies.

Cancer 20, 1452 - 1465, 1967

POLLYCOVE, M.:

Eisenstoffwechsel, in:

ZÖLLNER, N. (Hrg.): Thannhausers Lehrbuch des Stoffwechsels und Stoffwechselkrankheiten. 837 - 861

Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1957

PRELLWITZ, W.:

Klinisch-chemische Diagnostik.  
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 1972

PRIBILLA, W.:

Erkrankungen der roten Blutzellen ( Erythropoese), in:  
GROSS, R., JAHN, D., SCHÖLMERICH, P.:  
Lehrbuch der Inneren Medizin, 113 - 152,  
Schattauer-Verlag, Stuttgart und New York 1970

PÜTTER, J.:

Der Glukosestoffwechsel maligner Tumoren, in:  
Fortschritte der Krebsforschung. 259 - 271,  
Schattauer-Verlag, Stuttgart und New York 1969

SCHAUER, A., VÖLLNAGEL, T., WILDANGER, F. (1):

Cancerisierung des Rattendarmes durch 1,2-Dimehtyl-  
hydrazin.  
Zschr. exper. Med., 150, 87 - 93, 1969

SCHAUER, A., VÖLLNAGEL, T., WILDANGER, F., (2):

Morphologische und histochemische Untersuchungen bei  
der Cancerisierung der Darmschleimhaut der Ratte durch  
1,2-Dimethylhydrazin (DMH).  
Verh.Dtsch.Ges.Path., Band 53, 23, 1969

SIBLEY, J.A., LEHNINGER, A.L.:

Aldolase in the Serum and Tissues of Tumor-Bearing  
Animals.  
J.nat.Canc.Inst. 9, 303 - 309, 1949

SOONG, B.C.F., MILLER, S.P.:

Coagulation Disorders in Cancer III.  
Fibrinolysis and Inhibitors.  
Cancer, 25 No. 4, 867 - 874, 1970

SPJUT, H.J., NOALL, H.W.:

Experimental Induction of Tumors of the  
Large Bowel of Rats.  
Cancer 28, No. 7, 29 - 37, 1971

SPRINGER, P., SPRINGER, J., OEHLERT, W.:

Die Vorstufen des 1,2-Dimethylhydrazininduzierten  
Dick- und Dünndarmcarcinoms der Ratte.

Zschr.Krebsforsch. 74, 236 - 240, 1970

STRAUB, P.W., KESSLER, S.:

Umsatz und Lokalisation von J<sup>131</sup>-Fibrinogen bei  
chronischer intravasaler Gerinnung.

Schweiz.Med.Wschr., 100, Nr. 46, 2001 - 2003, 1970

TSETANOVA, E.:

Aldolase Isoenzymes in the Serum of Patients with  
Neuromuscular Diseases.

Clin.Chim.Acta 31, No. 1, 283 - 284, 1971

TZVETANOVA, E.:

Aldolase Isoenzymes in Patients with Progressive  
Muscle Dystrophy and in Human Fetuses.

Clin.Chem. 17, No. 9, 926 - 930, 1971

WARBURG, O., CHRISTIAN, W.:

Gärungsfermente im Blutserum von Tumor-Ratten.

Biochemische Zschr. W.Grassmann (Dresden), 314,

399 - 408, Berlin 1943

WEISBURGER, J.H.:

Colon Carcinogens: Their Metabolism and Mode of Action.

Cancer 28, No. 1, 60 - 70, 1971

WIEBECKE, B., KREY, U., LÖHRS, U., EDER, M (1):

Tumorentwicklung am Darm untersucht.

Neoplastische Veränderungen mit 1,2-Dimethylhydrazin  
reproduziert.

Kongressbericht Med.Tribune, Wiesbaden, Nr.21,12,1972

WIEBECKE, B., LÖHRS, U., GIMMY, J., EDER, M.(2):

Erzeugung von Darmtumoren bei Mäusen durch 1,2-Dimethyl-  
hydrazin.

Zschr.exper.Med., 149, 277 - 278, 1969

WITTIG, G., WILDNER, G.P., ZIEBARTH, D.:

Der Einfluß der Ingesta auf die Kanzerisierung des  
Rattendarms durch Dimethylhydrazin.

Arch. Geschwulstforsch., Band 37, 2, 105 - 115, 1971

WYCOFF, H.D.:

Production of Fibrinogen Following an Endotoxin In-  
jection.

Proc.Soc.Exper.Biol.Med. New York, 133, No.3, 940-943,  
1970

YOUNG, E.G., WEBBER, R.V.:

On the Origin of Human Plasma Proteins:

Electrophoretic Analyses in Selected Pathological States.

Canad.J.Med.Sc. 31, 45 - 63, 1953

ZELLWEGER, H., DURNIN, H., SIMPSON, J.:

The Diagnostic Significance of Serum Enzymes and  
Electrocardiogram in Various Muscular Dystrophies.

Acta Neurol. Scand. 48, No. 1, 87 - 101, 1972

### Lebenslauf

Am 9.März 1950 wurde ich als Sohn des Dr.med. habil. Horst Reich und seiner Frau Elisabeth, geborene Hansen, in Frankenthal/Pfalz geboren. Dort ging ich auch von 1956 bis 1960 zur Volksschule; danach besuchte ich den neusprachlichen Zweig des Neusprachlichen und Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Gymnasiums Frankenthal, in dem ich am 18.Juni 1969 das Abitur erreichte.

Im Oktober 1969 nahm ich das Medizin- und das Zahnmedizinstudium in Mainz auf. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung absolvierte ich dort am 25.September 1970, die ärztliche Vorprüfung am 5.April 1972, die zahnärztliche Vorprüfung am 5.Oktober 1972.

Die ärztliche Prüfung bestand ich am 26.Juni 1975.





